

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 2003-066020
 (43)Date of publication of application : 05.03.2003

(51)Int.Cl.

G01N 30/46
 G01N 27/62
 G01N 30/04
 G01N 30/08
 G01N 30/72

(21)Application number : 2001-252104
 (22)Date of filing : 22.08.2001

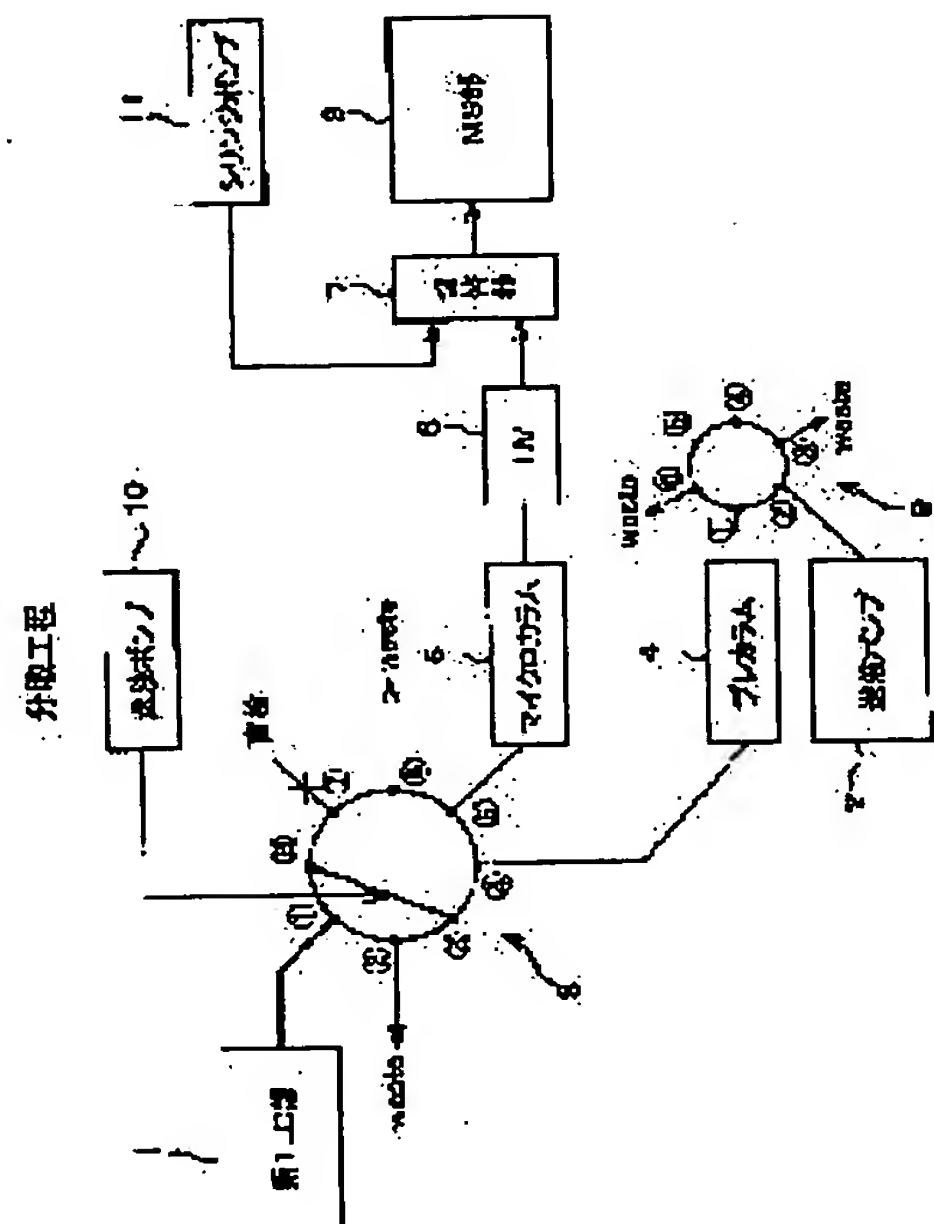
(71)Applicant : SUMITOMO CHEM CO LTD
 (72)Inventor : YAMASHITA KAZUKO
 OKAMOTO MASAHIKO
 NAKAI KIYOSHI

(54) ANALYZING SYSTEM

(57)Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To provide an analyzing system capable of measuring mass spectrum of a trace of component in a mass spectrometer, by forming a passage so as not to lose the trace of component in a specimen.

SOLUTION: This system is provided with a sample loop to divide an object component among various components separated in a first LC part 1, a component concentrating pre-column 4 to absorb the object component divided by the sample loop, and a MS part 3 to measure mass spectrum of the component by carrying out mass spectrometry for the object component eluted and separated from the pre-column 4 by a feed pump 2 in a second LC part. A first passage from the first LC part 1 to the sample loop, a second passage from the sample loop to the pre-column 4, and a third passage from the pre-column 4 to the MS part 3 through a part of the second passage are switched by a 8-way directional valve 8.



LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

07.06.2005

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision
of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's
decision of rejection]

[Date of extinction of right]

Copyright (C); 1998,2003 Japan Patent Office

(2)

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 試料中の各種成分を分離する第 1 液体クロマトグラフ装置と、

上記第 1 液体クロマトグラフ装置にて分離された各種成分のうち、目的成分を分取するサンプルループと、
上記サンプルループに分取された目的成分を吸着する成分濃縮用のカラムと、

上記カラムに吸着された目的成分を溶出分離する第 2 液体クロマトグラフ装置と、

上記第 2 液体クロマトグラフ装置にて上記カラムから溶出分離された目的成分のマススペクトルを測定する質量分析装置とを備え、

上記第 1 液体クロマトグラフ装置からサンプルループまでの第 1 流路と、

上記サンプルループから上記カラムまでの第 2 流路と、
上記カラムから上記第 2 流路の一部を通り上記質量分析装置までの第 3 流路との切り替えが一つの切り替えバルブで行われていることを特徴とする分析システム。

【請求項 2】 上記切り替えバルブは、八方バルブであることを特徴とする請求項 1 記載の分析システム。

【請求項 3】 上記第 3 流路上に、上記カラムから溶出された目的成分を含む溶液と、質量数既知の標準物質を含む溶液との送出を切り替えて上記質量分析装置に送り込むための切替手段が設けられ、

上記切替手段は、目的成分を含む溶液が質量分析装置に送り込まれる直前または送り込まれた後、所定時間において、標準物質を含む溶液が該質量分析装置に送り込まれるように、それぞれの溶液の送出を切り替えることを特徴とする請求項 1 または 2 記載の分析システム。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】 本発明は、液体クロマトグラフ装置と質量分析装置とを連結して、試料中の微量成分を分離してそのマススペクトルを測定する分析システムに関するものである。

【0002】

【従来の技術】 従来より、試料中の各種成分を分離するために、液体クロマトグラフ装置が使用され、分離された成分のマススペクトルを測定するために、質量分析装置が使用されている。

【0003】 そして、目的成分の分離および質量分析を効率よく行うために、液体クロマトグラフ装置による試料の成分分離と、分離された成分の質量分析装置による測定とをオンラインで行うシステムが提案されている。このようなシステムの一例としては、株式会社島津製作所の『Co-Sense for LC-MS』や特開平 3-175355 号公報に開示されたシステム（以下、LC-MS システムと称する）がある。

【0004】 上記 LC-MS システムは、例えば、図 16 に示すように、液体クロマトグラフ装置（LC）にて

2

分離された成分を分取するためのサンプルループが形成された第 1 六方バルブ 101 と、分取された成分を濃縮して、質量分析装置（MS）に送出するための第 2 六方バルブ 102 とを備えている。

【0005】 上記 LC-MS システムでは、上記の第 1 六方バルブ 101 と第 2 六方バルブ 102 とにより流路を切り替えることで、目的成分の分取工程と、濃縮工程と、溶出工程とが実行される。

【0006】 まず、目的成分の分取工程では、図 16 に示すように、LC からの試料がサンプルループに送出されるように、第 1 六方バルブ 101 を切り替える。このようにして、目的成分の分取が行われる。

【0007】 次に、目的成分の濃縮工程では、図 17 に示すように、サンプルループに分取された目的成分を第 2 六方バルブ 102 側に送出するために、第 1 六方バルブ 101 を切り替えてポンプ 103 を駆動させる。

【0008】 上記ポンプ 103 により送出される溶液（水）によってサンプルループ内の分取された目的成分を第 2 六方バルブ 102 に送り出す。このとき、第 2 六方バルブ 102 は、第 1 六方バルブ 101 から送出される試料がカラム 104 を通るよう切り替えられる。このようにして、上記カラム 104 では、第 1 六方バルブ 101 から送出される試料に含まれる目的成分が吸着される。

【0009】 続いて、目的成分の溶出工程では、図 18 に示すように、カラム 104 に吸着された目的成分を溶出して MS に送出するために、第 2 六方バルブ 102 を切り替えてポンプ 105 を駆動させる。

【0010】 上記ポンプ 105 によって送出される溶液（溶媒）によって、カラム 104 内に吸着された目的成分を溶出し、その溶液をカラム 106 を通して MS に送出する。ここで、カラム 106 は、目的成分を更に分離精製すると共に、濃縮するためのカラムである。

【0011】 上記構成の LC-MS システムによれば、濃縮された目的成分が MS に送出され、該 MS において、目的成分のマススペクトルの測定が行われる。ここで、精密質量測定を行う際には、標準物質のマススペクトルに基づいて目的成分のマススペクトルの質量校正が行われる。

【0012】

【発明が解決しようとする課題】 ところで、上述した LC-MS システムでは、目的成分の分取、濃縮、溶出測定の各工程において、流路の切り替えに、汎用性の高い六方バルブが用いられている。このため、目的成分の分取を行うサンプルループに接続されたバルブ（第 1 六方バルブ 101）と、目的成分の吸着および溶出を行うカラム 104 に接続されたバルブ（第 2 六方バルブ 102）の少なくとも 2 つのバルブを必要とする。

【0013】 このように流路を切り替えるためのバルブの数が多くなれば、必然的に、LC-MS システム内の

(3)

3

流路の複雑化および長大化を招来する。そして、流路が長くなれば、該流路内で成分の損失が大きくなる。この影響は、試料中の含有量の少ない成分、特に試料全体のおよそ1%以下の成分、いわゆる微量成分に対しては非常に大きくなる。

【0014】したがって、流路内での損失が大きければ、質量分析装置において微量成分のマススペクトルの測定を行うことができないという問題が生じる。

【0015】また、エレクトロスプレーイオン化法を用いた質量分析装置では、精密質量測定を行う際に、目的成分と標準物質とを同時に該質量分析装置に導入してマススペクトルを測定すると、質量分析装置に導入される目的成分と標準物質のイオン化効率のコントロールができず、目的成分由来のイオンと標準物質由来のイオンとが競合するなどの問題が生じやすく、この結果、目的成分の精密質量測定を適切に行うことができないという問題が生じる。

【0016】本発明は、上記の各問題点を解決するためになされたもので、その目的は、試料中の微量成分をできるだけ損失しないように流路を構成し、さらに、目的成分由来のイオンと標準物質由来のイオンとが競合しないように目的成分および標準物質を導入する手段を設けることで、質量分析装置において微量成分の精密質量測定が行えるような分析システムを提供することにある。

【0017】

【課題を解決するための手段】本発明者等は、上記の課題を解決するために、鋭意検討した結果、分離された試料中の目的成分を分取するのに必要な流路と、分取した目的成分を濃縮するのに必要な流路と、濃縮した目的成分を質量分析するのに必要な流路との切り替えを一つの切り替えバルブを用いて行うことで、分析システム全体の流路を短く、且つ簡潔にできることを見出した。

【0018】したがって、本発明の分析システムは、試料中の各種成分を分離する第1液体クロマトグラフ装置と、上記第1液体クロマトグラフ装置にて分離された各種成分のうち、目的成分を分取するサンプルループと、上記サンプルループに分取された目的成分を吸着するカラムと、上記カラムに吸着された目的成分を溶出分離する第2液体クロマトグラフ装置と、上記第2液体クロマトグラフ装置にて上記カラムから溶出分離された目的成分のマススペクトルを測定する質量分析装置とを備え、上記第1液体クロマトグラフ装置からサンプルループまでの第1流路と、上記サンプルループから上記カラムまでの第2流路と、上記カラムから上記第2流路の一部を通り上記質量分析装置までの第3流路との切り替えが一つの切り替えバルブで行われていることを特徴としている。

【0019】上記の構成によれば、上記切り替えバルブにより第1流路に切り替えられたとき、第1液体クロマトグラフ装置により分離された成分のうちの目的とする

4

成分がサンプルループ内に分取される（分取工程）。また、上記切り替えバルブにより第2流路に切り替えられたとき、サンプルループ内で分取された成分がカラムによって吸着される（濃縮工程）。さらに、上記切り替えバルブにより第3流路に切り替えられたとき、上記第2液体クロマトグラフ装置によりカラム内の吸着成分が溶出され、この溶出された成分のマススペクトルが質量分析装置により測定される（溶出測定工程）。

【0020】このように、試料中の目的成分の分取、濃縮、溶出測定の各工程を実行するための流路（第1～第3流路）が一つの切り替えバルブで切り替えられることで、3つの流路の分岐点が一つで済むようになり、この結果、分析システム全体の流路、すなわち目的成分を分離測定するに至る流路（第1液体クロマトグラフ装置から質量分析装置に至る流路）を短くすることができる。

【0021】したがって、第1液体クロマトグラフ装置によって分離分取された成分、すなわち目的成分が微量成分の場合であっても、流路が長いことに起因する損失を低減することができるので、分析に必要な量の微量成分を質量分析装置に供給することができ、この結果、微量成分のマススペクトルの測定を感度よく、且つ精度よく行うことができる。

【0022】しかも、カラムから質量分析装置までの第3流路の一部が、サンプルループからカラムまでの第2流路の一部と共有され、第2流路を使用する濃縮工程で目的成分が吸着されたカラムに、第3流路を使用する溶出測定工程においては、第2流路とは逆向きに溶媒が流れて目的成分が溶出されるようになるので、目的成分をさらに濃縮することができ、目的成分の測定感度をさらに向上させることができる。

【0023】上記切り替えバルブとして、八方バルブを使用してもよい。

【0024】上記八方バルブは、二度の状態切り替えで3つの流路を切り替えることができる。つまり、上記八方バルブは、第1流路と第3流路とが開放状態となると、第2流路が閉塞状態となり、また、第2流路が開放状態となると、第1流路と第3流路とが閉塞状態となるように、2回の動作切り替えで、それぞれの流路を切り替えるようにすればよい。

【0025】なお、八方バルブの他に、バルブ数が $8 + (2n - 2)$ 本（ n は自然数）以上のバルブであれば、2回の動作切り替えで、3つの流路を切り替えることが可能となる。例えば10方バルブ、12方バルブ等を八方バルブの代替品とすることも可能である。

【0026】また、上記第3流路上に、上記カラムから溶出された目的成分を含む溶液と、質量数既知の標準物質を含む溶液との送出を切り替えて上記質量分析装置に送り込むための切替手段を設け、この切替手段が、目的成分を含む溶液が質量分析装置に送り込まれる直前または送り込まれた直後に標準物質を含む溶液が該質量分析

(4)

5

装置に送り込まれるように、それぞれの溶液の送出を切り替えるようにしてもよい。

【0027】この場合、切替手段により目的成分を含む溶液と標準物質を含む溶液との送液を切り替えて該質量分析装置に送り込むようになるので、目的成分と標準物質の量比のコントロールがしやすくなる。これにより、質量分析装置内において、目的成分由来のイオンと、標準物質由来のイオンとが競合しないように、目的成分と標準物質の量比をコントロールすることができる。

【0028】したがって、目的成分、特に測定感度を要する微量成分由来のイオンから得られるマススペクトルにおいて、標準物質由来のイオンによる影響を殆ど受けないようになるので、質量分析装置において、導入される物質のイオン化の容易さ等の影響を受けずに済む。

【0029】このため、目的成分が微量成分であっても、試料を質量分析装置に1回導入するだけで、確実に質量分析を行うことができるので、試料を何回も導入して条件検討する必要がなくなり、分析の手間と分析に要する試料の量を大幅に削減することができる。

【0030】

【発明の実施の形態】本発明の実施の一形態について説明すれば、以下の通りである。

【0031】本実施の形態に係る分析システムは、図1に示すように、液体クロマトグラフ装置としての第1LC部1および第2LC部（送液ポンプ2、マイクロカラム5、UV6）と、質量分析装置としてのMS部3とを備え、試料中から目的成分の分離と質量分析とをオンラインで行うようになっている。

【0032】上記分析システムは、8個のポート①～⑧を有する切り替えバルブとしての八方バルブ8を備え、この八方バルブ8を中心に、第1LC部1、第2LC部の送液ポンプ2、MS部3が接続されるように構成されている。

【0033】すなわち、上記八方バルブ8のポート①には、第1LC部1が接続され、ポート④には、プレカラム4、六方バルブ9を介して第2LC部の送液ポンプ2が接続され、ポート⑤には、第2LC部のマイクロカラム5、第2LC部のUV6、切替器（切替手段）7を介してMS部3が接続されている。

【0034】また、上記八方バルブ8の残りのポートのうち、ポート②および⑥は廃液部（waste）に接続され、ポート③と⑧は互いに連結されてサンプルループを形成している。なお、ポート⑦は盲栓により塞がれた状態となっている。

【0035】上記第1LC部1は、コンベンショナルな液体クロマトグラフ装置、すなわち流量範囲が0.2～1ml/min、試料負荷量が1～1000μg程度の液体クロマトグラフ装置で構成されており、試料中の各種成分を分離して、八方バルブ8のポート①に送り出すようになっている。

6

【0036】上記サンプルループは、第1LC部1により分離された成分のうち、目的とする成分を分取するためのものである。

【0037】上記プレカラム4は、八方バルブ8のポート④を介して送られる目的成分を吸着し、濃縮するための濃縮用のカラムであり、目的成分の種類に応じて変更されるものである。

【0038】上記第2LC部は、例えばマイクロ液体クロマトグラフ装置、すなわち流量が数μl/min程度の液体クロマトグラフ装置、または、ナノ液体クロマトグラフ装置、すなわち流量が数百nl/min程度の液体クロマトグラフ装置で構成されており、プレカラム4に吸着された目的成分を溶出して、その溶出した溶液を八方バルブ8を介してマイクロカラム5に送り出すようになっている。

【0039】上記マイクロカラム5は、プレカラム4から溶出した目的成分を含む溶液から目的成分を更に分離精製すると共に、濃縮するためのカラムであり、目的成分の種類に応じて適宜変更されるものである。

【0040】なお、上記のように第1LC部1よりもスケールの小さい液体クロマトグラフ装置を第2LC部に用いることにより、より濃縮された目的成分を質量分析装置に送り出すことができ、例えばエレクトロスプレーイオン化法を用いた質量分析の感度を高めることができる。

【0041】上記マイクロカラム5の下流側に接続されたUV6は、目的成分の検出用の紫外吸光光度計からなる検出器である。このUV6の検出結果により、目的成分が切替器7に送り込まれるタイミング、すなわちMS部3に送り込まれるタイミングを検出することができる。なお、目的成分の検出器としては、UV6に限定されるものではなく、他の検出器、例えば、赤外吸光光度計（IR）やけい光光度計（FP）等が使用可能である。

【0042】上記切替器7は、UV6を通過した目的成分を含む溶液と、シリンジポンプ11から送り出される標準物質との送出を切り替えて、MS部3に送り出すための手段である。すなわち、切替器7は、図示しない制御手段により、目的成分を含む溶液がMS部3に送り込まれる直前または送り込まれた後、所定時間において標準物質を含む溶液が該MS部3に送り込まれるように、それぞれの溶液の送出を切り替えるように制御されている。

【0043】上記八方バルブ8のポート③と⑧とで形成されるサンプルループ上には、例えば三方コックにより、該サンプルループに分取された目的成分をプレカラム4に送り出すための送液ポンプ10が接続されている。この送液ポンプ10からは、サンプルループ内の目的成分がプレカラム4に吸着され易いように例えば水が送られるようになっている。

(5)

7

【0044】逆に、第2LC部の送液ポンプ2からは、プレカラム4に吸着された目的成分を溶出できるような溶媒が送り出される。

【0045】また、上記第2LC部の送液ポンプ2とプレカラム4との間には、流路の切り替えのための六方バルブ9が設けられている。この六方バルブ9は、6個のポート①～⑥を有しており、ポート①にプレカラム4が接続され、ポート②に第2LC部の送液ポンプ2が接続され、ポート③および⑥は、廃液部(waste)に接続されており、プレカラム4が目的成分を吸着している間は、ポート①からポート⑥が接続状態となり、プレカラム4から目的成分が溶出する間は、ポート①からポート②が接続状態となる。

【0046】ここで、上記構成の分析システムによる分析動作について、図1～図3を参照しながら以下に説明する。

【0047】はじめに、上記八方バルブ8と六方バルブ9とについて説明する。

【0048】八方バルブ8は、図4(a)(b)に示すように、2回の切替動作により、それぞれのポートが隣接する一方のポートとオンライン状態となる。すなわち、八方バルブ8は、図4(a)に示す状態、すなわちポート①と⑧、ポート②と③、ポート④と⑤、ポート⑥と⑦がオンラインとなる状態と、図4(b)に示す状態、すなわち、ポート①と②、ポート③と④、ポート⑤と⑥、ポート⑦と⑧がオンラインとなる状態とを切り替えるようになっている。なお、オンライン状態とは、各ポート間において溶液が送出可能となる状態を示す。

【0049】上記の八方バルブ8として、例えばVIC I (Valco Instruments Co. Inc.)製の『Schematic Flow Diagram-2 Position Sample Injector Switching Valve: 8 Port External Volume Sample Injector Cheminest Models C2』を使用している。この製品は、日本ではジーエルサイエンス株式会社が取り扱っている。なお、八方バルブ8としては、上記のものに限定されるものではない。

【0050】また、六方バルブ9は、図5(a)(b)に示すように、2回の切替動作により、それぞれのポートが隣接する一方のポートとオンライン状態となる。すなわち、六方バルブ9は、図5(a)に示す状態、すなわち、ポート①と⑥、ポート②と③、ポート④と⑤がオンラインとなる状態と、図5(b)に示す状態、すなわちポート①と②、ポート③と④、ポート⑤と⑥がオンラインとなる状態とを切り替えるようになっている。

【0051】上記六方バルブ9としては、日本においてごく一般に用いられるバルブが使用される。

【0052】続いて、上記構成の分析システムの分析動作について説明する。この分析システムにおける分析動作は、大きく分けて、目的成分を分取する分取工程と、目的成分を濃縮する濃縮工程と、目的成分の溶出してマ

8

ススペクトルの測定を行う溶出測定工程との3つの工程からなっている。

【0053】まず、分取工程では、八方バルブ8が図4(a)に示す状態になり、ポート①、ポート⑧、ポート③、ポート②がオンライン状態となり、目的成分を分取するための第1流路を形成する。これにより、図1に示すように、第1LC部1にて分離された目的成分が上記第1流路(図中の太線で示した流路)を流れて該第1流路上のサンプルループ内に取り込まれる。このとき、サンプルループ内に分取される目的成分を希釈するために、送液ポンプ10から水が0.5～5ml/minで該サンプルループ内に常に送出されている。なお、水の送出量(水量)は、サンプルループ内の目的成分の希釈率に依存する。

【0054】ここで、サンプルループに取り込まれる目的成分の分取量は、1～2ml程度とするが、これに限定されるものではなく、目的成分の種類や分析システムの規模等に応じて該サンプルループの容量を変更すればよい。

【0055】なお、上記の八方バルブ8の切り替えは、該八方バルブ8が図4(b)に示す状態、すなわち第1LC部1からの成分がポート①から入って、ポート②から排出される状態において、目的とする成分が第1LC部1によって分離されるタイミングで行われる。

【0056】次に、濃縮工程では、サンプルループ内に目的成分が分取された後、八方バルブ8を図4(b)に示す状態に切り替える。これにより、図2に示すように、ポート⑧とポート⑦、ポート③とポート④がオンライン状態となる。このとき、サンプルループ上に接続された送液ポンプ10から例えば水が該サンプルループに送出される。このとき、100kg/cm²の圧力で送液ポンプ10から水がサンプルループに送出されている。なお、この水圧については、目的成分の種類、プレカラム4の種類、分析システムの規模等により適宜設定されるものである。

【0057】これにより、サンプルループに分取された目的成分は、送液ポンプ10から送出される水により希釈されながらポート③、ポート④を経てプレカラム4に送り出される。つまり、八方バルブ8が図4(b)に示す状態に切り替えられることで、図2に示すように、サンプルループからポート③、④を経てプレカラム4に至る第2流路(図中の太線で示す流路)を形成する。

【0058】この場合のプレカラム4の下流側に接続された六方バルブ9は、図5(a)に示すように、ポート①とポート⑥がオンライン状態となり、プレカラム4で目的成分が吸着された後の溶媒がポート⑥から排出される。

【0059】続いて、溶出測定工程では、上記のようにして、プレカラム4に目的成分が完全に吸着されれば、再び、八方バルブ8を図4(a)に示す状態に切り替え

(6)

9

ると共に、六方バルブ9を図5(b)に示す状態に切り替える。これにより、図3に示すように、六方バルブ9のポート①とポート②とがオンライン状態となる一方、八方バルブ8のポート④とポート⑤とがオンライン状態となり、第2LC部の送液ポンプ2からMS部3に至る第3流路(図中の太線で示した流路)を形成する。

【0060】すなわち、この第3流路においては、第2LC部の送液ポンプ2から送出された溶媒が六方バルブ9のポート②からポート①を経てプレカラム4に送り出される。

【0061】そして、プレカラム4内で吸着された目的成分が、送り込まれた溶媒により溶出され、この溶出した目的成分を含む溶液が八方バルブ8のポート④からポート⑤を経てマイクロカラム5に送り出される。

【0062】このマイクロカラム5において、目的成分が更に分離精製されると共に、濃縮され、目的成分を含む溶液は、次段のUV6に送り出される。

【0063】上記UV6では、送り込まれた溶液から目的成分を検出する。また、精密質量測定を行う場合は、この検出結果を図示しない制御手段に送るようになってい。そして、この制御手段は、UV6から送り出される目的成分を含む溶液をMS部3に送り出す直前または送り出した後に、所定時間において、シリンジポンプ11から送りだされる標準物質を含む溶液をMS部3に送り出すように送出路を切り替えるように切替器7を制御する。

【0064】ここで、切り替えの所定時間は、MS部3内部の環境が変化することを考慮すれば、目的成分を含む溶液と標準物質を含む溶液とを、1~2分間程度の間隔で送り出すのが好ましい。なお、このMS部3への目的成分を含む溶液と標準物質を含む溶液との切り替え制御についての詳細は後述する。

【0065】以上のように、上記構成の分析システムでは、目的成分の分取工程、すなわち図1に示す第1流路を使用する分取工程、目的成分の濃縮工程、すなわち図2に示す第2流路を使用する濃縮工程、目的成分の溶出測定工程、すなわち図3に示す第3流路を使用する溶出測定工程が八方バルブ8および六方バルブ9を切り替えるだけで簡単に行うことができる。

【0066】しかも、八方バルブ8は、第1流路、第2流路、第3流路を切り替えるようになっているので、従来のように、複数の六方バルブを使用して上記の第1流路、第2流路、第3流路を切り替える分析システムに比べて、流路を簡単にすることができる共に、流路の長さを短くすることができる。

【0067】これにより、第1LC部1によって分離分取された成分、すなわち目的成分が微量成分であっても、流路が長いことに起因する損失を低減することができるので、分析に必要な量の成分をMS部3に供給することができ、この結果、微量成分のマススペクトル測定

10

を感度よく、且つ精度よく行うことができる。

【0068】しかも、プレカラム4からMS部3までの第3流路の一部が、サンプルループからプレカラム4までの第2流路の一部と共有され、第2流路を使用する濃縮工程で目的成分が吸着されたカラムに、第3流路を使用する溶出測定工程においては、第2流路とは逆向きに溶媒が流れて目的成分が溶出されるようになるので、目的成分をさらに濃縮することができ、目的成分の測定感度をさらに向上させることができる。

10 【0069】このように、上記八方バルブ8は、二度の状態切り替えで3つの流路を切り替えることができる。つまり、第1流路と第3流路とがそれぞれ開放状態となると、第2流路が閉塞状態となり、また、第2流路が開放状態となると、第1流路と第3流路とが閉塞状態となるように、2回の動作切り替えで、それぞれの流路を切り替えることができる。ここで、流路の開放状態とは、流路内を溶液が送出できる状態を示し、流路の閉塞状態とは、流路内を溶液が送出できない状態を示す。

20 【0070】したがって、上述した八方バルブ8の他に、バルブ数が $8 + (2n - 2)$ 本(n は自然数)以上のバルブであれば、2回の動作切り替えで、3つの流路を切り替えることが可能となる。具体的は、10方バルブ、12方バルブ等が考えられる。

【0071】次に、MS部3への目的成分を含む溶液と標準物質を含む溶液との切り替え制御について以下に説明する。

30 【0072】上述したように、MS部3には、目的成分を含む溶液が送り込まれ、それと相前後して標準物質を含む溶液が送り込まれる。このときの、各溶液におけるマスキロマトグラムは、図6に示すようになる。この図において、試料(実線)は、目的成分を含む溶液のマスキロマトグラムを示し、標準品(破線)は、標準物質を含む溶液のマスキロマトグラムを示している。

【0073】また、目的成分のスペクトルの平均化は、試料のマスキロマトグラムのピークから標準品のマスキロマトグラムのピークの間で行われる。

40 【0074】このように、プレカラム4からMS部3に至る第3流路上に設けられた、上記プレカラム4から溶出された目的成分を含む溶液と、質量数既知の標準物質を含む溶液とを切り替えて上記MS部3に送り込むための切替器7が、目的成分を含む溶液がMS部3に送り込まれる直前または送り込まれた直後に標準物質を含む溶液が該MS部3に送り込まれるように、それぞれの溶液の送出を切り替えるようにすれば、目的成分と標準物質の量比のコントロールがしやすくなる。

【0075】つまり、MS部3内において、目的成分由来のイオンと、標準物質由来のイオンとが競合しないように、目的成分と標準物質の量比をコントロールすることができる。

50 【0076】したがって、目的成分、特に測定感度を要

(7)

11

する微量成分由来のイオンから得られるマススペクトルにおいて、標準物質由来のイオンによる影響を殆ど受けないようになるので、MS部3において、導入される物質のイオン化の容易さ等の影響を受けずに済む。

【0077】このため、目的成分が微量成分であっても、試料をMS部3に1回導入するだけで、確実に質量分析を行うことができるので、試料を何回も導入して条件検討する必要がなくなり、分析の手間と分析に要する試料の量を大幅に削減することができる。

【0078】

【実施例】本実施例では、前記実施の形態で説明した分析システムを用いて、微量成分を分離測定する場合について説明する。

【0079】〔実施例1〕まず、八方バルブ8を図4(a)の状態とし、試料として、Warfarin ($C_{19}H_{16}O_4$ 、分子量308)の10nmol/ μ l溶液5 μ l (Warfarin 50nmol)を第1LC部1(コンベンショナルLC)に供した。サンプルループとしては内径800 μ m、長さ2m(容量1ml)のステンレス製ループを用いた。

【0080】第1LC部1の測定条件を以下に示す。

LC装置 : 島津製6Aシステム

カラム : Sumipax ODS A212、6mm \times 15cm (5 μ m)

(住化分析センター製)

カラム温度 : 室温 (25 $^{\circ}$ C)

移動相 : A液 蒸留水にTFAを0.1%となるよう添加した溶液

B液 アセトニトリルにTFAを0.08%となるよう添加した溶液

グラジエント : A液が40%、B液が60%の割合で混合されてなる移動相で溶出を開始し、20分間かけてB液の割合を60%から90%にまで上げながらA液とB液との混合液を流し、さらにA液が10%、B液が90%の割合で混合されてなる移動相を5分間流した。

流速 : 1ml/min

検出波長 : 254nm

上記測定条件によって第1LC部1で得られた液体クロマトグラムを図7に示す。

【0081】第1LC部1にて目的成分が溶出し終わった時に、八方バルブ8を図4(b)の状態に切り替え、目的成分をサンプルループ内に取り込んだ。

【0082】次に、六方バルブ9を図5(a)の状態とし、送液ポンプ10を用いて上記A液をサンプルループに送液して(150kg/cm³にて約100 μ l/min)サンプルループ内の液をプレカラム4に送り出した。

【0083】そして、六方バルブ9のポート⑥から約1ml(サンプルループ容量相当)の廃液が排出された時点で、六方バルブ9を図5(b)の状態に、また、八方バルブ8を図4(a)の状態にそれぞれ切り替え、第2

12

LC部の送液ポンプ2から送液して、プレカラム4に吸着された成分を溶出し、マイクロカラム5へと送り出した。

【0084】プレカラム4としては、野村化学製のC30(20 μ m、0.3mm \times 35mm)を使用した。

【0085】第2LC部の測定条件を以下に示す。

送液ポンプ2 : 日立製L6200

マイクロカラム5 : Develosil SR 0.3mm \times 15cm (野村化学製)

10 カラム温度 : 室温 (25 $^{\circ}$ C)

移動相 : A液 蒸留水にTFAを0.1%となるよう添加した溶液

B液 アセトニトリルにTFAを0.08%となるよう添加した溶液

グラジエント : A液が90%、B液が10%の割合で混合されてなる移動相で溶出を開始し5分間同じ割合の移動相を流し、次いで、5分間かけてB液の割合を10%から90%にまで上げながらA液とB液との混合液を流し、さらにA液が10%、B液が90%の割合で混合されてなる移動相を10分間流した。

20 流速 : 6 μ l/min (送液ポンプ流速0.4ml/minをスプリット)

UV6波長 : 254nm

マイクロカラム5からの目的成分の溶出がUV6で検出された後、直ちに切替器7を切り替えることにより、目的成分(Warfarin)をMS部3に送り込んだ直後に標準物質をMS部3に送り込んだ。標準物質(Calibrant)としては、Sanol LS-770(三共株式会社商品名、1価イオンのm/z=481、2価イオンのm/z=241)の約2pmol/ μ l溶液を用い、シリンジポンプ11(流速10 μ l/min)で送出した。

30 【0086】MS部3で得られた目的成分(Warfarin)のマスキロマトグラムを図8(a)に示し、Calibrantのマスキロマトグラムを図8(b)に示す。目的成分(Warfarin)とCalibrantとのマスキロマトグラムにおけるピーク時間のずれは、上記の切替器7による送液切り替えによる。

40 【0087】得られたマススペクトルを図9に示す。目的成分(Warfarin)の1価イオンピークはm/z=309.1に出現した。また、Calibrantの1価イオンピークはm/z=481.4に、2価イオンピークはm/z=241.2に出現した。

【0088】次いで、Calibrant(Sanol LS-770)の1価イオンのm/zの理論値481.4005、および2価イオンのm/zの理論値241.2042に基づいて上記m/zの測定値を校正し、目的成分(Warfarin)の1価イオンのm/zを精密に求めた。求められたm/zは309.11315となり、理論値との差は1.5ppmであった。このm/zから試料の組成式は $C_{19}H_{16}O_4$ と導かれた。

50 【0089】〔実施例2〕実施例1と同様にして、試料として、Propranolol($C_{16}H_{21}NO_2$ 、分子量259)とChlorp

(8)

13

Chlorpheniramine Maleate ($C_{16}H_{19}N_2O$, 分子量279)との混合溶液(それぞれ10 pmol/ μ l) 10 μ l を第1 LC部1 (コンベンショナルLC) に供した。

【0090】第1 LC部1の条件を以下に示す。

LC装置 : 島津6Aシステム

カラム : Sumipax ODS A212, 6mm \times 15cm (5 μ m)

カラム温度 : 室温 (25) $^{\circ}$ C

移動相 : A液 蒸留水にTFAを0.1 %となるよう添加した溶液

B液 アセトニトリルにTFAを0.08 %となるよう添加した溶液

グラジエント : A液が85%、B液が15%の割合で混合されてなる移動相で溶出を開始し、16分間かけてB液の割合を15%から60%にまで上げながらA液とB液との混合液を流した後、さらにA液が10%、B液が90%の割合で混合されてなる移動相を4分間流した。

流速 : 1 ml/min

14

* 検出波長 : 254 nm

上記測定条件によって第1 LC部1で得られた液体クロマトグラムを図10に示す。

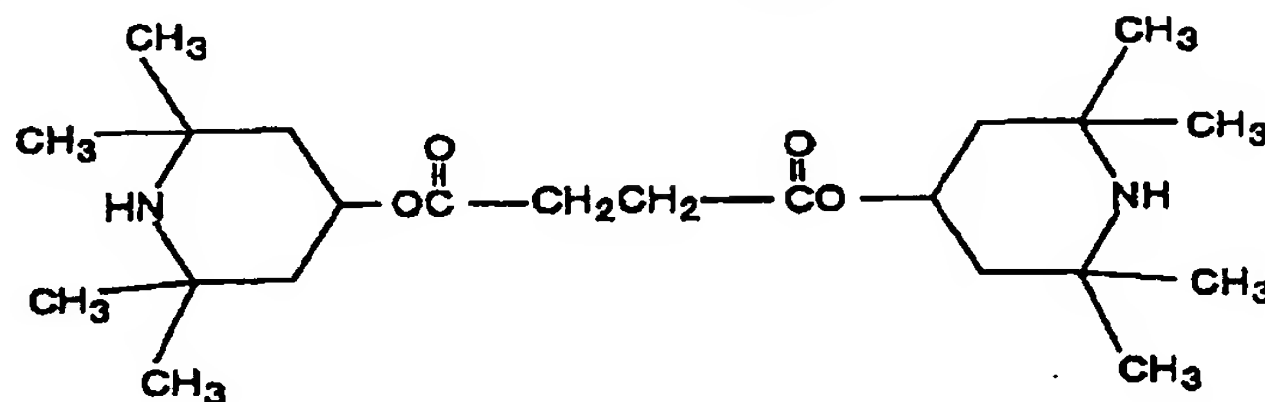
【0091】次に、実施例1と同様にして、まず、Chlorpheniramine Maleateを含む画分をサンプルループ内に取り込んだ後、プレカラム4に送り出した。さらに、プレカラム4に吸着された成分を溶出し、マイクロカラム5を経てMS部3に送り込んだ。

【0092】プレカラム4、第2 LC部、MS部3の条件はそれぞれ実施例1と同じ条件を用いた。

【0093】標準物質 (Calibrant) としては、テレフタル酸 (バックグラウンドピークのm/z=149) と以下の式 (I) で示される化合物 (1価イオンのm/z=397、2価イオンのm/z=199) との混合溶液 (それぞれ約2 pmol/ μ l) を用い、シリンジポンプ11 (流速10 μ l/min) で送出した。

【0094】

【化1】



... (I)

【0095】第2 LC部で得られた液体クロマトグラムを図11 (a) に示す。また、MS部3で得られたCalibrant のマスキロマトグラムを図12 (a) に示し、目的成分 (Chlorpheniramine Maleate) のマスキロマトグラムを図12 (b) に示す。目的成分 (Chlorpheniramine Maleate) とCalibrant とのマスキロマトグラムにおけるピーク時間のずれは、切替器7による送液切り替えによる。

【0096】得られたマスペクトルを図14に示す。目的成分 (Chlorpheniramine Maleate) の1価イオンピークはm/z=275.1 に出現した。また、Calibrant (テレフタル酸) のバックグラウンドピークはm/z=149.0 に出現し、Calibrant (式 (I) で示される化合物) の1価イオンピークはm/z=397.3 に出現した。

【0097】次いで、Calibrant (テレフタル酸) のバックグラウンドピークのm/z の理論値149.0239、およびCalibrant (式 (I) で示される化合物) の1価イオンのm/zの理論値397.3066に基づいて上記m/z の測定値を校正し、目的成分 (Chlorpheniramine Maleate) の1価イオンのm/z を精密に求めた。求められたm/z は275.13145 となり、理論値との差は-0.2 ppm であった。このm/z から試料の組成式は $C_{16}H_{19}N_2O$ と導かれた。

【0098】次に、上記と同様にして、第1 LC部1か

らの溶出液から、Propranolol を含む画分をサンプルループ内に取り込んだ後、プレカラム4に送り出した。さらに、プレカラム4に吸着された成分を溶出し、マイクロカラム5を経てMS部3に送り込んだ。

【0099】プレカラム4、第2 LC部、MS部3の条件はそれぞれ実施例1と同じ条件を用いた。

【0100】標準物質 (Calibrant) としては、上記と同様に、テレフタル酸 (バックグラウンドピークのm/z=149) と上記の式 (I) で示される化合物 (1価イオンのm/z=397、2価イオンのm/z=199) との混合溶液 (それぞれ約2 pmol/ μ l) を用いた。

【0101】第2 LC部で得られた液体クロマトグラムを図11 (b) に示す。また、MS部3で得られた目的成分 (Propranolol) のマスキロマトグラムを図13 (a) に示し、Calibrant のマスキロマトグラムを図13 (b) に示す。目的成分 (Propranolol) とCalibrant とのマスキロマトグラムにおけるピーク時間のずれは、切替器7による送液切り替えによる。

【0102】得られたマスペクトルを図15に示す。目的成分 (Propranolol) の1価イオンピークはm/z=260.2 に出現した。また、Calibrant (テレフタル酸) のバックグラウンドピークはm/z=149.0 に出現し、Calibrant (式 (I) で示される化合物) の1価イオンピークは

(9)

15

m/z=397.3 に出現した。

【0103】次いで、Calibrant（テレフタル酸）のバックランドピークのm/zの理論値149.0239、およびCalibrant（式（1）で示される化合物）の1価イオンのm/zの理論値397.3066に基づいて上記m/zの測定値を校正し、目的成分（Propranolol）の1価イオンのm/zを精密に求めた。求められたm/zは260.16597となり、理論値との差は3.5ppmであった。このm/zから試料の組成式は $C_{16}H_{21}NO_2$ と導かれた。

【0104】以上の結果から、本分析システムを使用すれば、最終的な目的成分のマススペクトルの測定において得られた値と理論値との誤差は、10ppm以内であり、精度よく成分の測定が行われていることが分かった。

【0105】

【発明の効果】本発明の分析システムは、以上のように、試料中の各種成分を分離する第1液体クロマトグラフ装置と、上記第1液体クロマトグラフ装置にて分離された各種成分のうち、目的成分を分取するサンプルループと、上記サンプルループに分取された目的成分を吸着するカラムと、上記カラムに吸着された目的成分を溶出分離する第2液体クロマトグラフ装置と、上記第2液体クロマトグラフ装置にて上記カラムから溶出分離された目的成分のマススペクトルを測定する質量分析装置とを備え、上記第1液体クロマトグラフ装置からサンプルループまでの第1流路と、上記サンプルループから上記カラムまでの第2流路と、上記カラムから上記第2流路の一部を通り上記質量分析装置までの第3流路との切り替えが一つの切り替えバルブで行われている構成である。

【0106】それゆえ、試料中の目的成分の分取、濃縮、溶出測定各工程を実行するための流路（第1～第3流路）が一つの切り替えバルブで切り替えられることで、3つの流路の分岐点が一つで済むようになり、この結果、分析システム全体の流路、すなわち目的成分を分離測定するに至る流路（第1液体クロマトグラフ装置から質量分析装置に至る流路）を短くすることができる。

【0107】したがって、第1液体クロマトグラフ装置によって分離分取された成分、すなわち目的成分が微量成分の場合であっても、流路が長いことに起因する損失を低減することができるので、分析に必要な量の微量成分を質量分析装置に供給することができ、この結果、微量成分のマススペクトル測定を感度よく、且つ精度よく行うことができる。

【0108】しかも、カラムから質量分析装置までの第3流路の一部が、サンプルループからカラムまでの第2流路の一部と共有され、第2流路を使用する濃縮工程で目的成分が吸着されたカラムに、第3流路を使用する溶出測定工程においては、第2流路とは逆向きに溶媒が流れて目的成分が溶出されるようになるので、目的成分をさらに濃縮することができ、目的成分の測定感度をさら

16

に向上させることができるという効果を奏する。

【0109】上記切り替えバルブとして、八方バルブを使用してもよい。

【0110】上記八方バルブは、二度の状態切り替えで3つの流路を切り替えることができる。つまり、上記八方バルブは、第1流路と第3流路とが開放状態となるとき、第2流路が閉塞状態となり、また、第2流路が開放状態となるとき、第1流路と第3流路とが閉塞状態となるように、2回の動作切り替えで、それぞれの流路を切り替えるようにすればよい。

【0111】また、上記第3流路上に、上記カラムから溶出された目的成分を含む溶液と、質量数既知の標準物質を含む溶液との送出を切り替えて上記質量分析装置に送り込むための切替手段を設け、この切替手段が、目的成分を含む溶液が質量分析装置に送り込まれる直前または送り込まれた直後に標準物質を含む溶液が該質量分析装置に送り込まれるように、それぞれの溶液の送出を切り替えるようにしてもよい。

【0112】この場合、切替手段により目的成分を含む溶液と標準物質を含む溶液との送液を切り替えて該質量分析装置に送り込むようになるので、目的成分と標準物質の量比のコントロールがしやすくなる。これにより、質量分析装置内において、目的成分由来のイオンと、標準物質由来のイオンとが競合しないように、目的成分と標準物質の量比をコントロールすることができる。

【0113】したがって、目的成分、特に測定感度を要する微量成分由来のイオンから得られるマススペクトルにおいて、標準物質由来のイオンによる影響を殆ど受けないようになるので、質量分析装置において、導入される物質のイオン化の容易さ等の影響を受けずに済む。

【0114】このため、目的成分が微量成分であっても、試料を質量分析装置に1回導入するだけで、確実に質量分析を行うことができるので、試料を何回も導入して条件検討する必要がなくなり、分析の手間と分析に要する試料の量を大幅に削減することができるという効果を奏する。

【図面の簡単な説明】

【図1】本発明の一実施の形態にかかる分析システムの概略構成図である。

【図2】本発明の一実施の形態にかかる分析システムの概略構成図である。

【図3】本発明の一実施の形態にかかる分析システムの概略構成図である。

【図4】（a）（b）は、図1ないし図3で示した分析システムに備えられた八方バルブの動作を示す説明図である。

【図5】（a）（b）は、図1ないし図3で示した分析システムに備えられた六方バルブの動作を示す説明図である。

【図6】図1ないし図3で示した分析システムの質量分

(10)

17

析装置 (MS 部) におけるマスキロマトグラムの一例を示す説明図である。

【図 7】第 1 LC 部での液体クロマトグラムを示す説明図である。

【図 8】(a) (b) は、MS 部でのマスキロマトグラムの一例を示す説明図である。

【図 9】図 8 (a) (b) で示したマスキロマトグラムから得られた ESI-MS スペクトルを示すグラフである。

【図 10】第 1 LC 部での液体クロマトグラムを示す説明図である。

【図 11】(a) (b) は、第 2 LC 部での液体クロマトグラムを示す説明図である。

【図 12】(a) (b) は、MS 部でのマスキロマトグラムの一例を示す説明図である。

【図 13】(a) (b) は、MS 部でのマスキロマトグラムの一例を示す説明図である。

【図 14】図 12 (a) (b) で示したマスキロマトグラムから得られた ESI-MS スペクトルを示すグラフである。

【図 15】図 13 (a) (b) で示したマスキロマトグ

18

ラムから得られた ESI-MS スペクトルを示すグラフである。

【図 16】従来の分析システムの概略を示す説明図である。

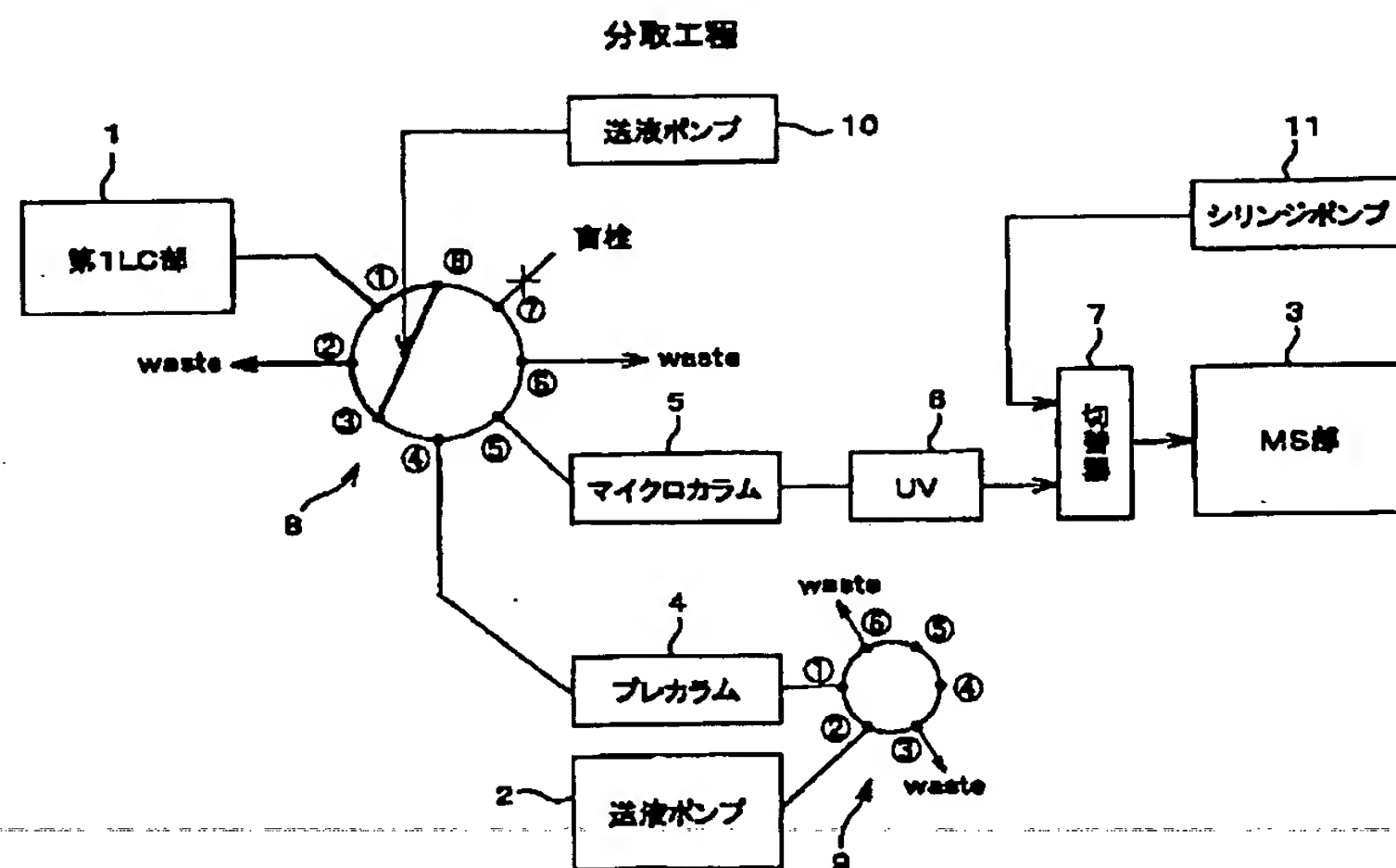
【図 17】従来の分析システムの概略を示す説明図である。

【図 18】従来の分析システムの概略を示す説明図である。

【符号の説明】

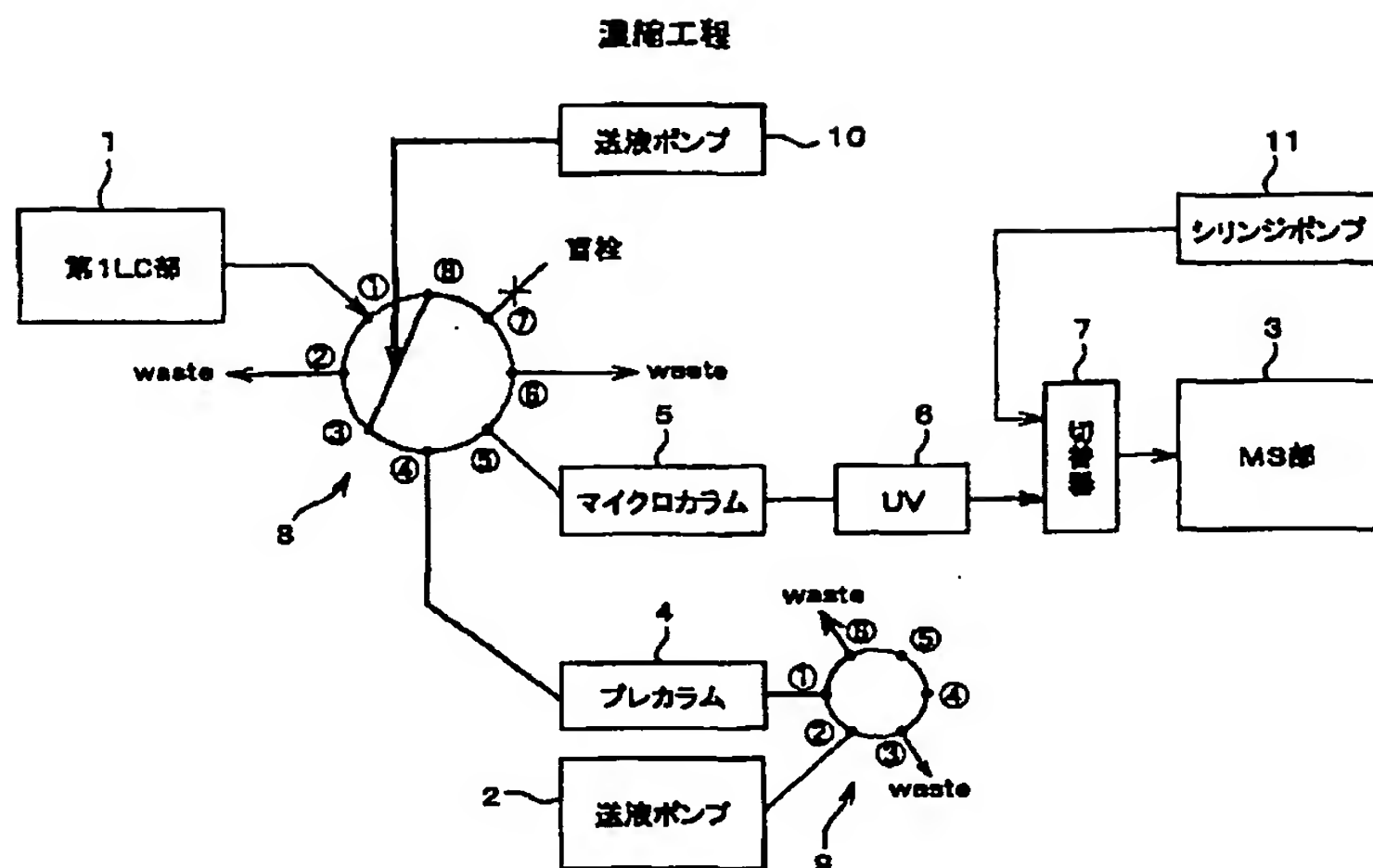
- | | |
|----|-----------------------------------|
| 1 | 第 1 LC 部 (第 1 液体クロマトグラフ装置) |
| 2 | 第 2 LC 部 (第 2 液体クロマトグラフ装置) の送液ポンプ |
| 3 | MS 部 (質量分析装置) |
| 4 | プレカラム (カラム) |
| 5 | マイクロカラム |
| 6 | UV |
| 7 | 切替器 (切替手段) |
| 8 | 八方バルブ (切り替えバルブ) |
| 9 | 六方バルブ |
| 10 | 送液ポンプ |
| 11 | シリンジポンプ |

【図 1】

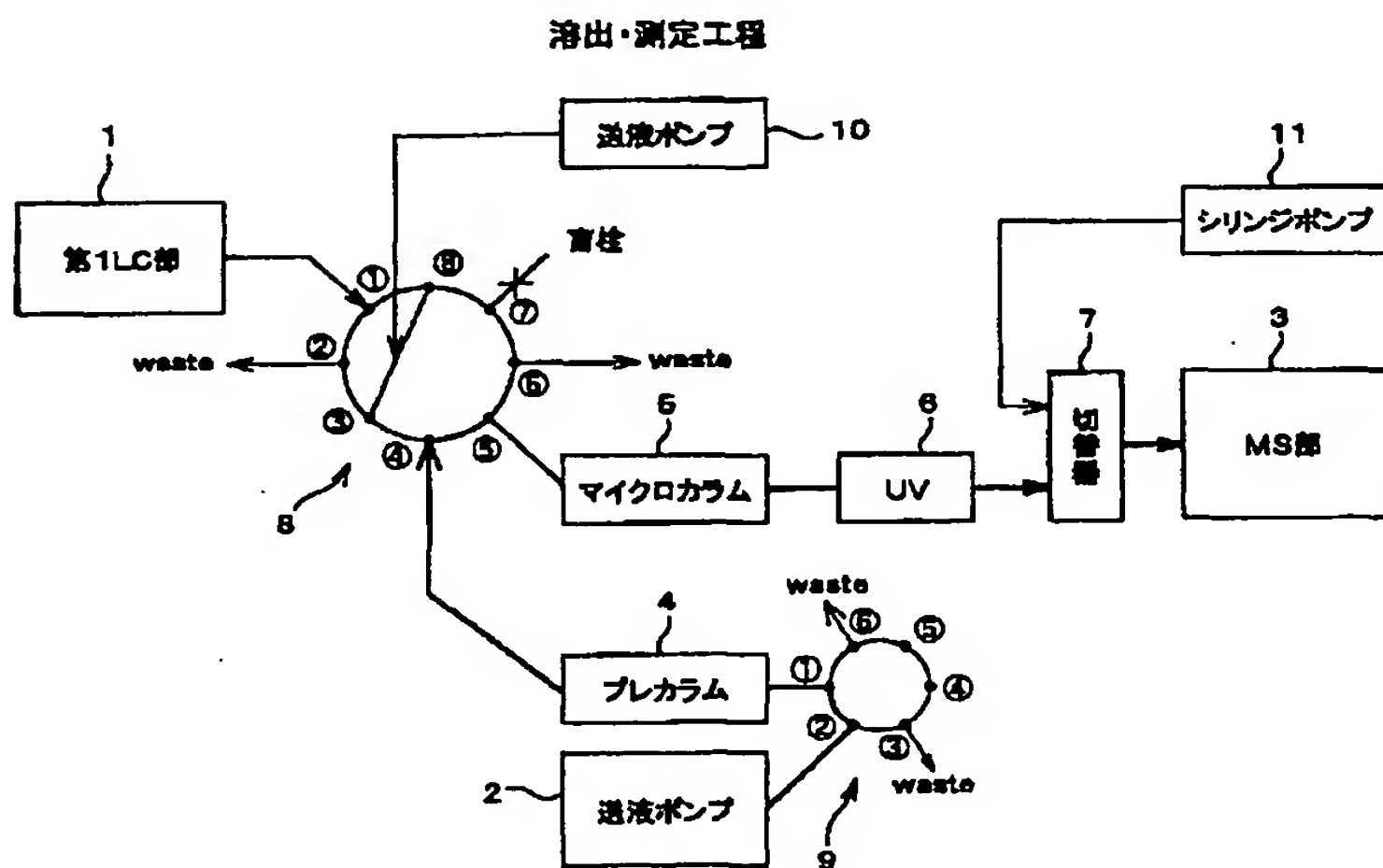


(11)

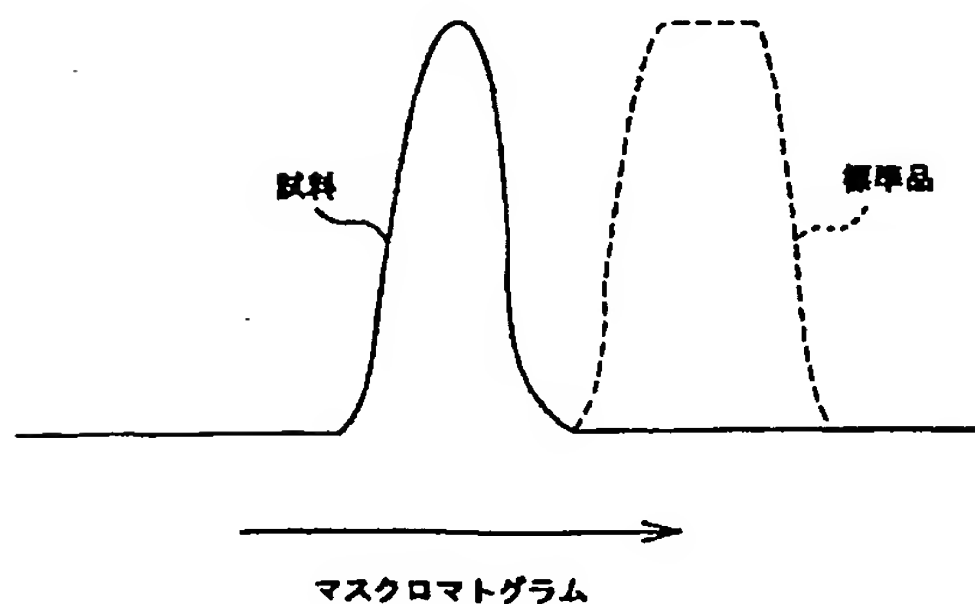
【図2】



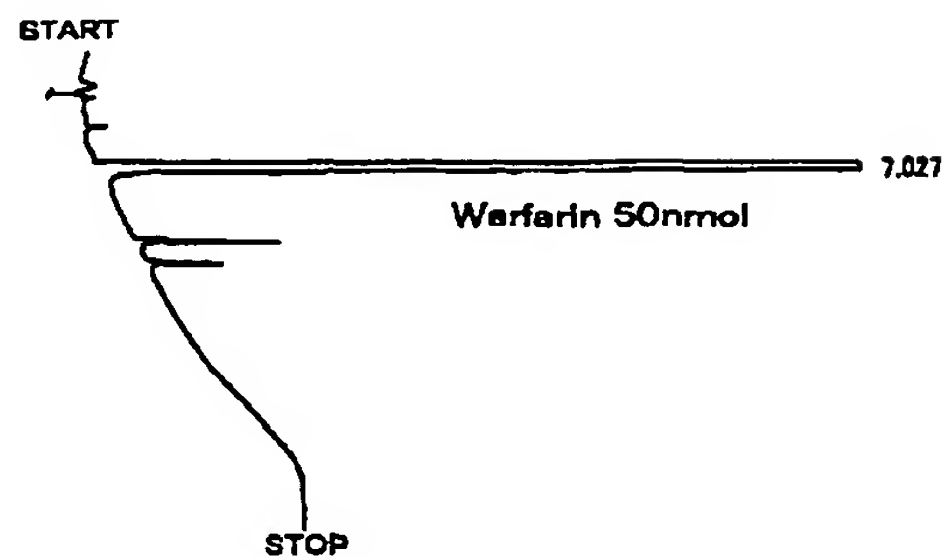
【図3】



【図6】

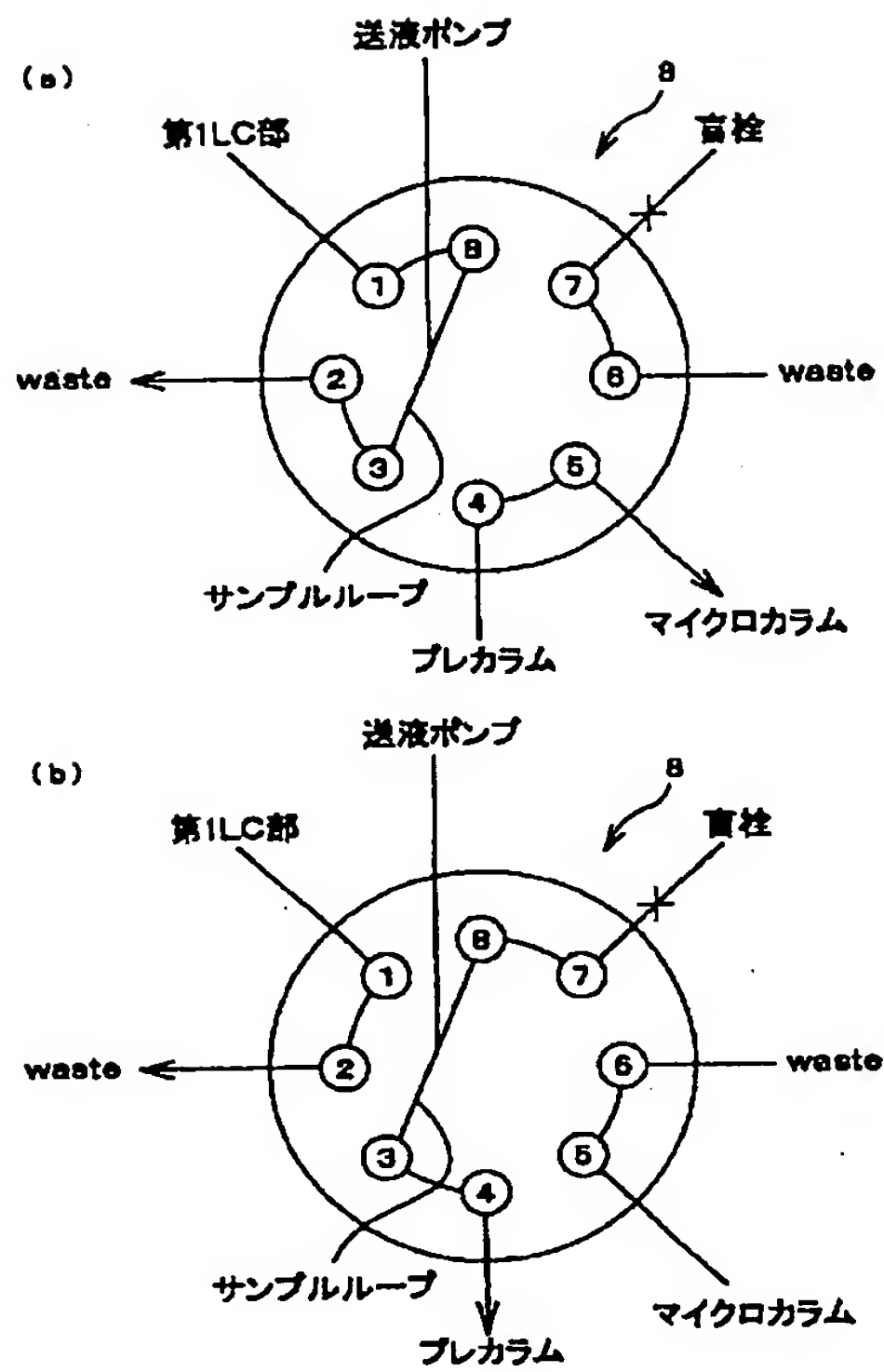


【図7】

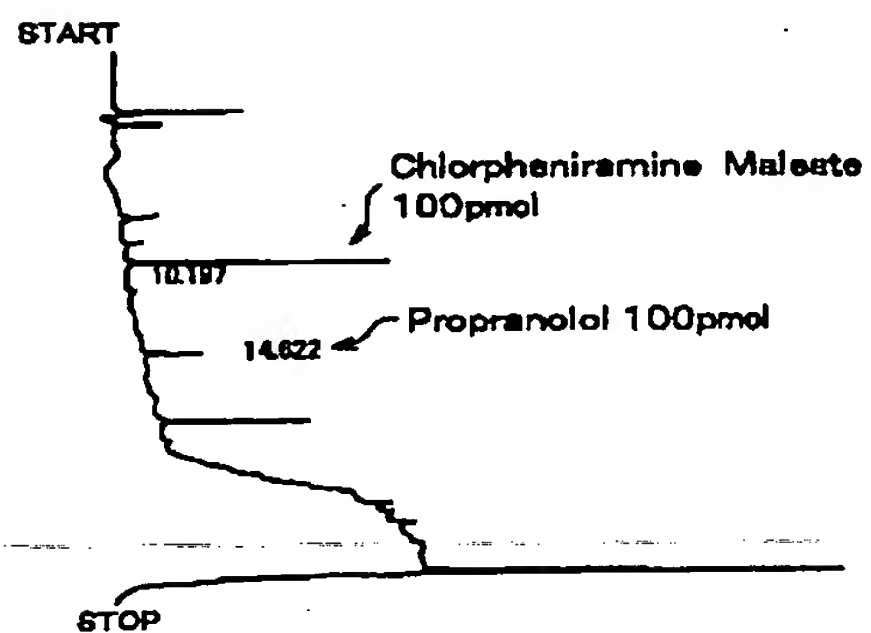


(12)

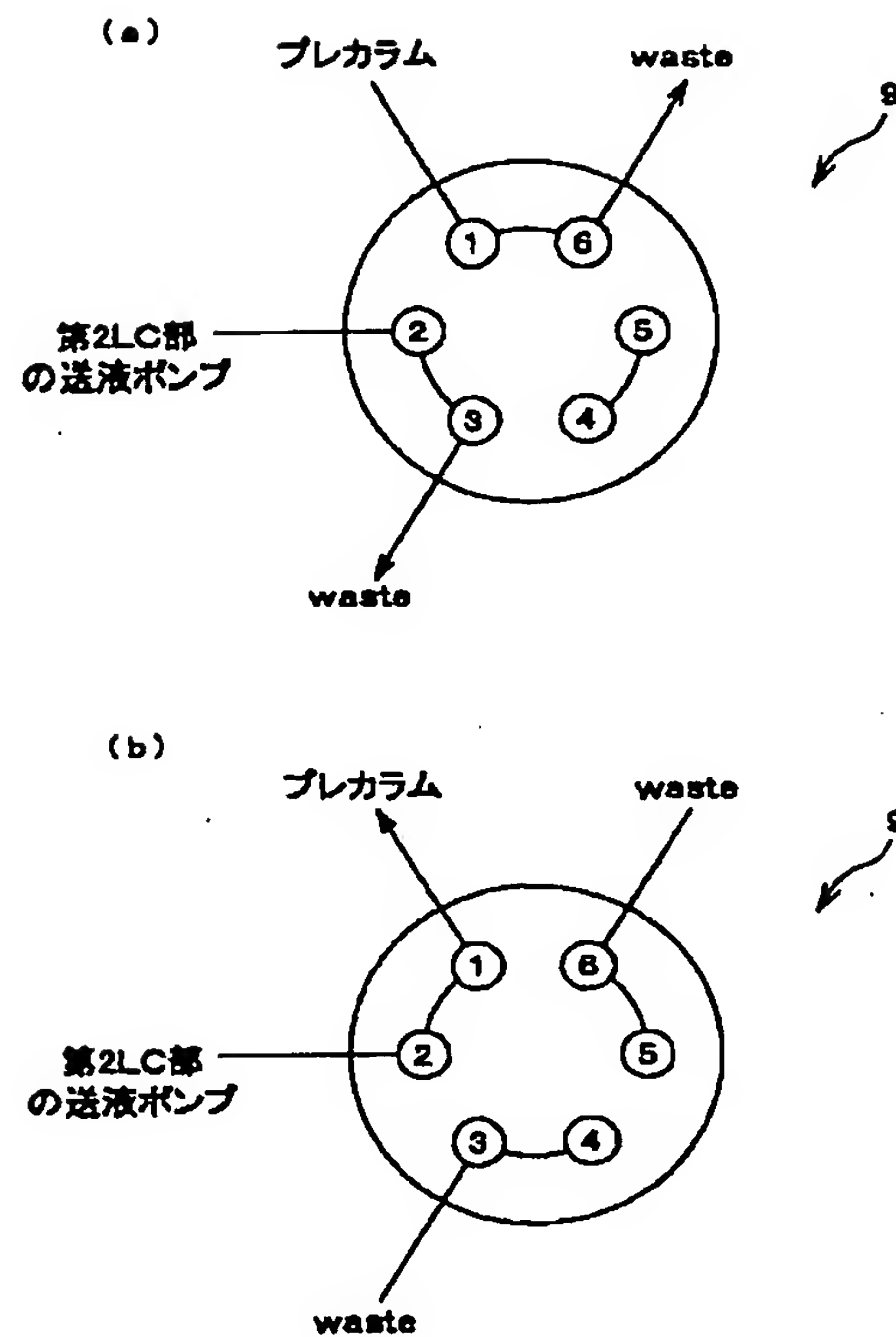
【図 4】



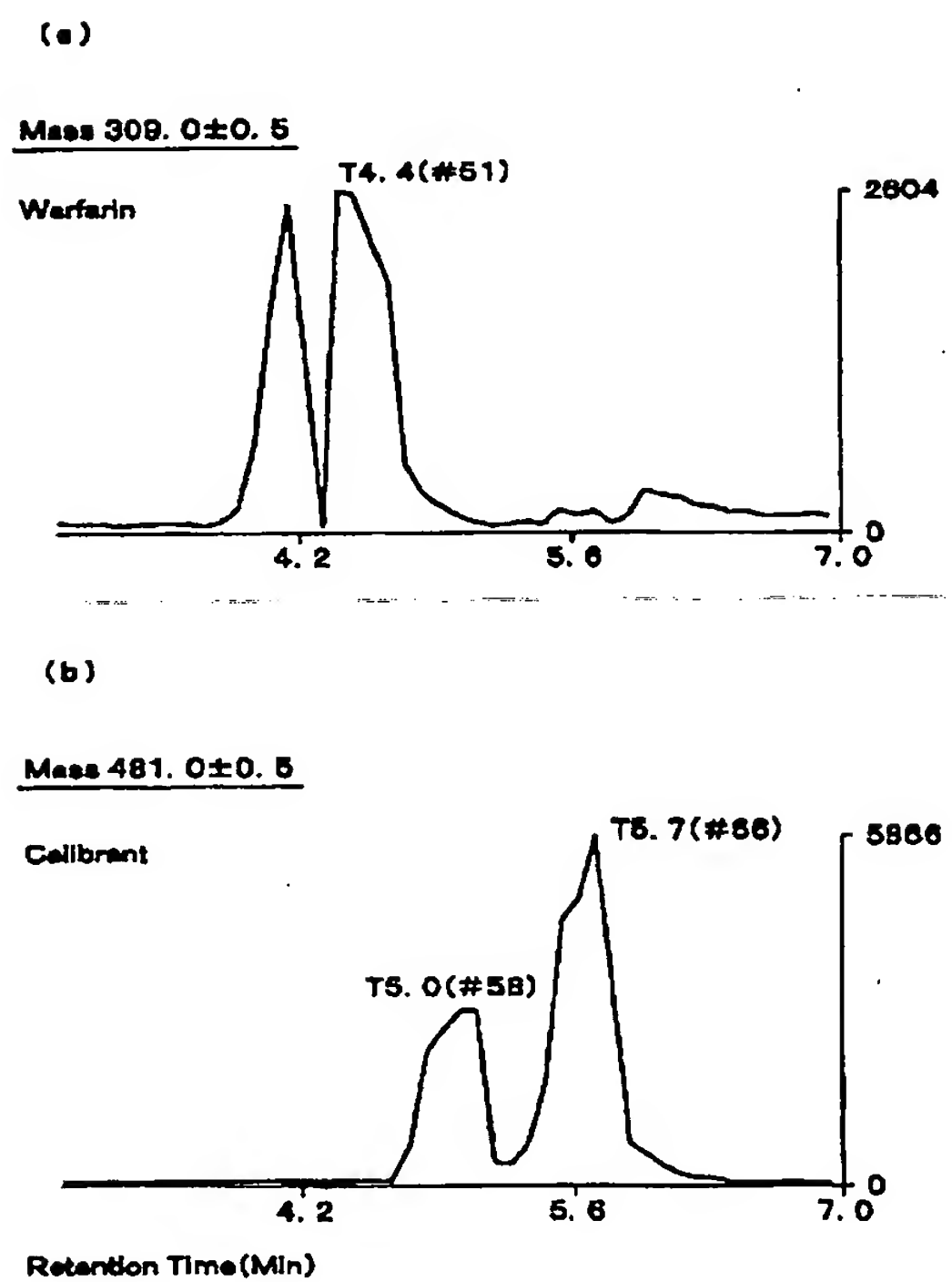
【図 10】



【図 5】

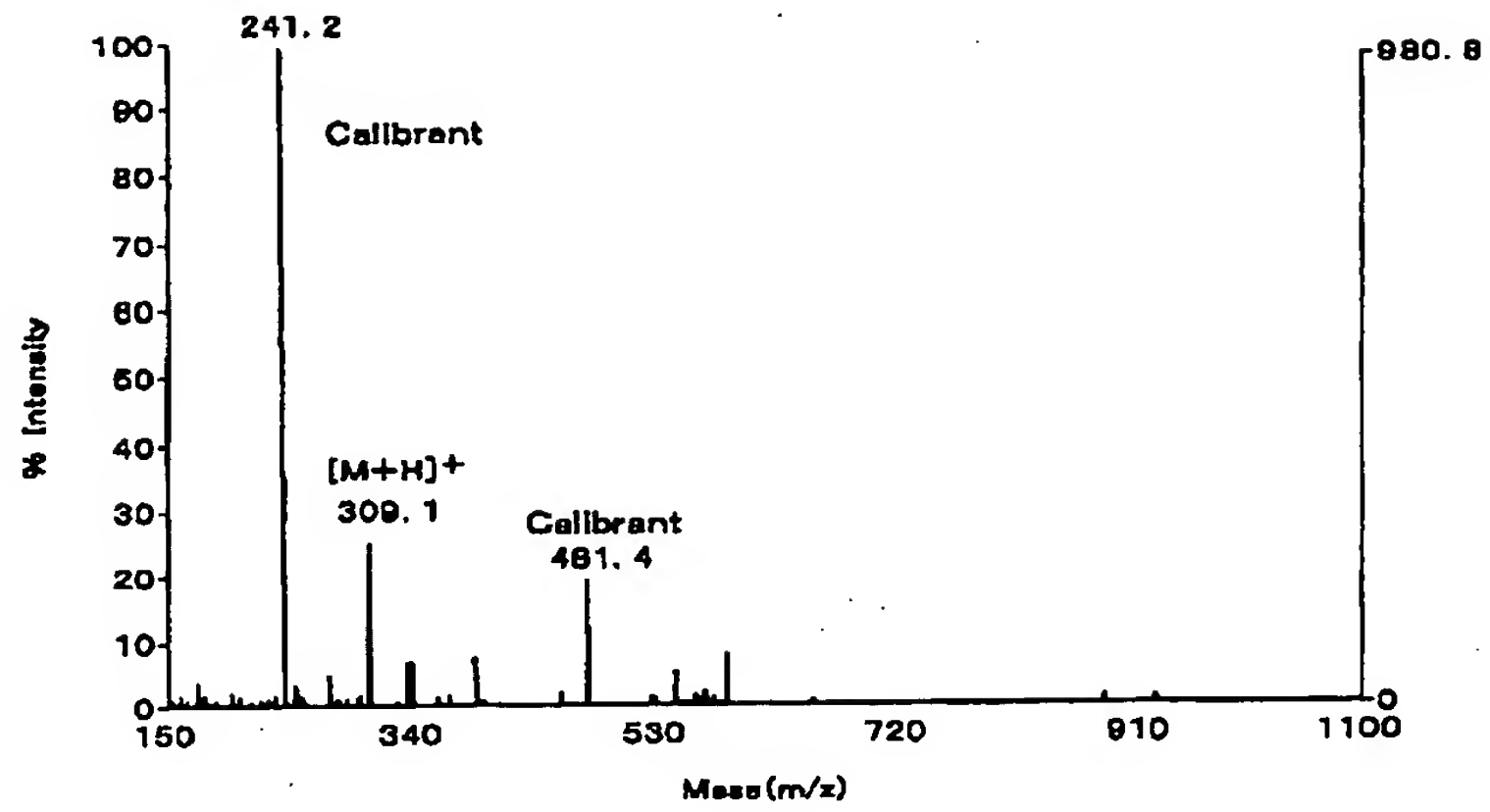


【図 8】



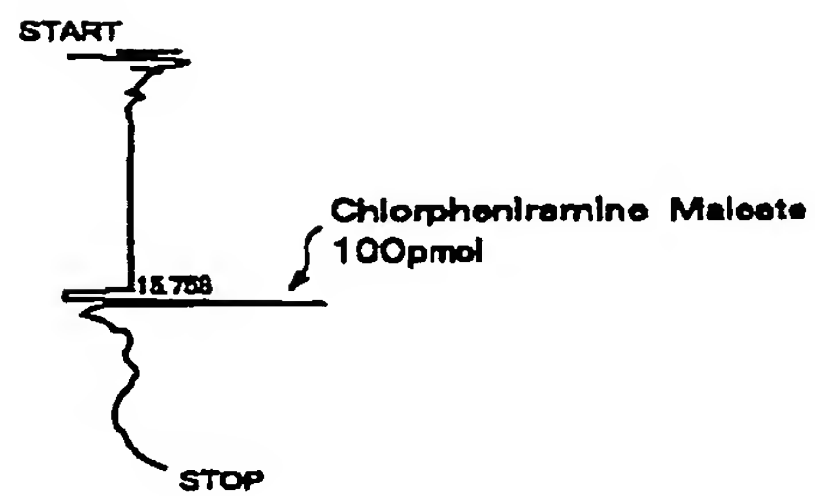
(13)

【図9】

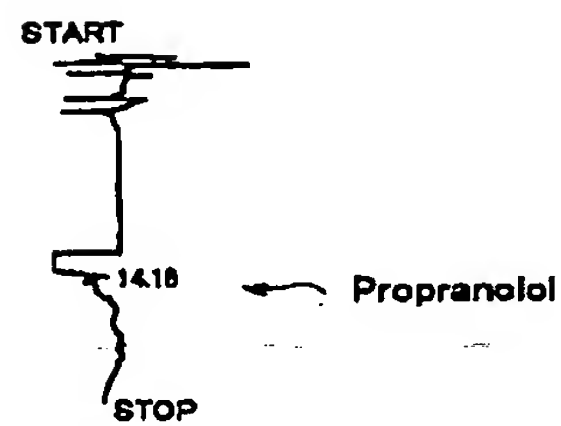


【図11】

(a)

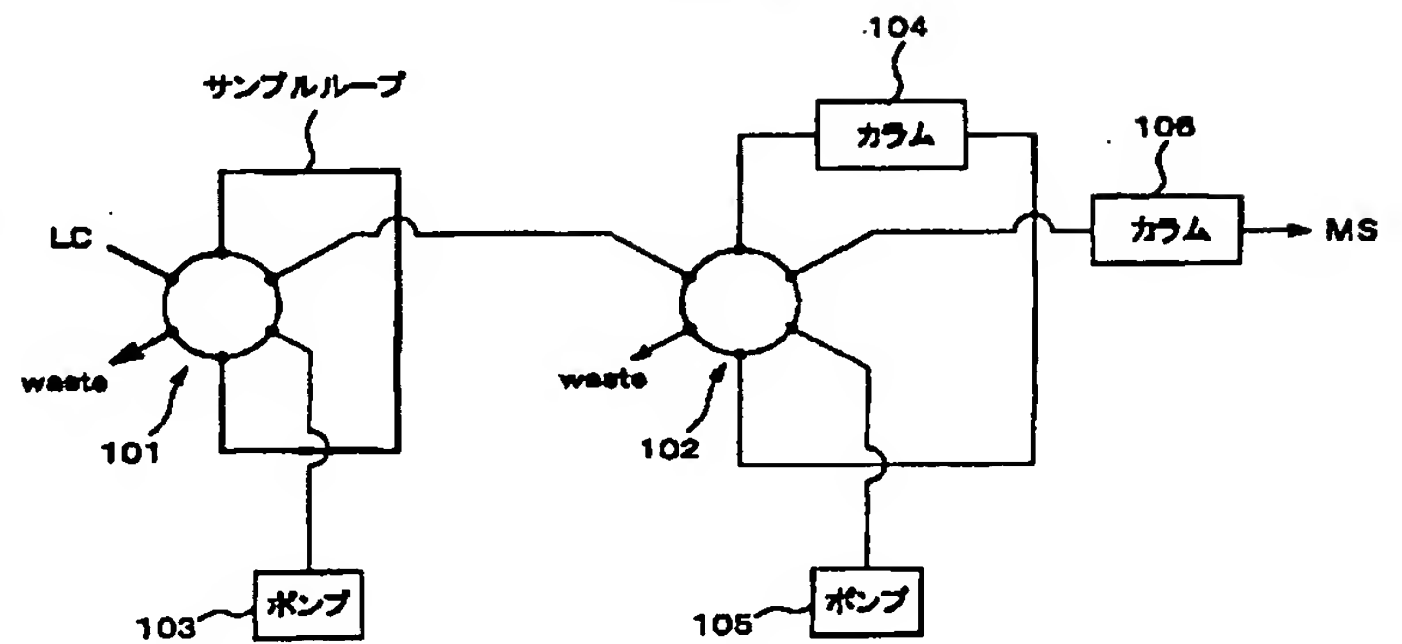


(b)



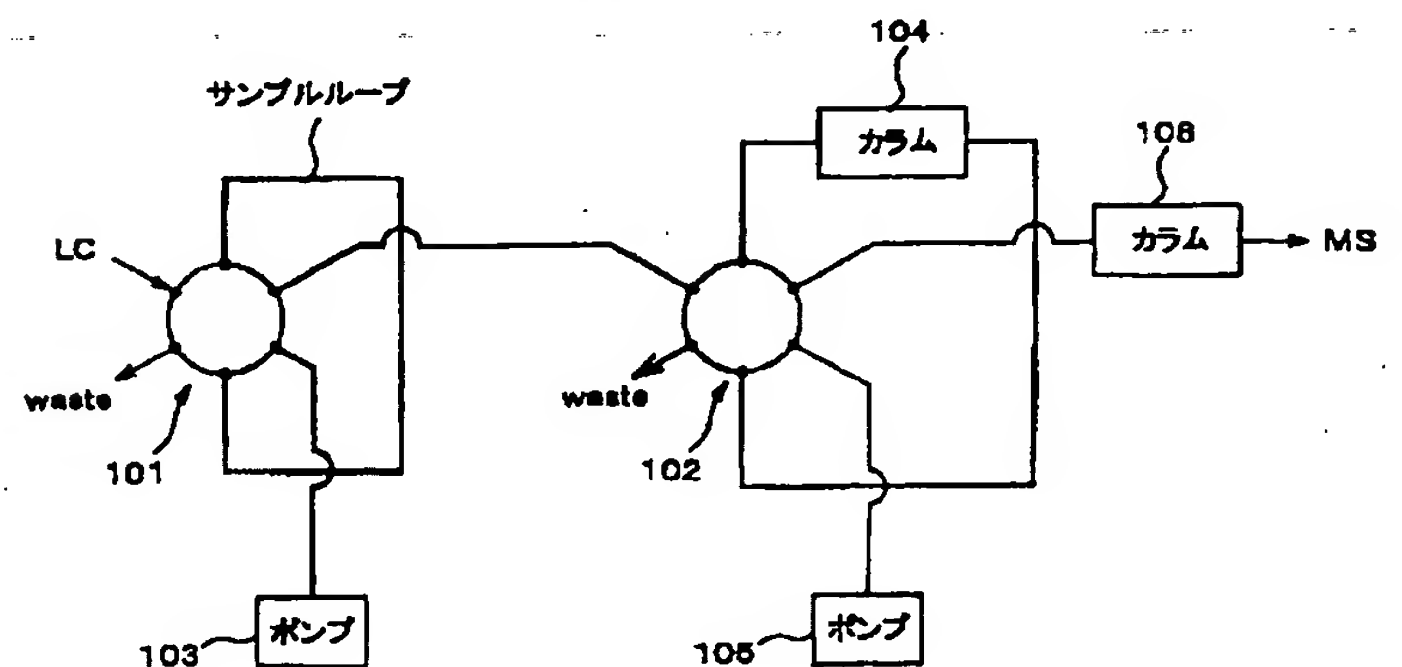
【図16】

分取工程



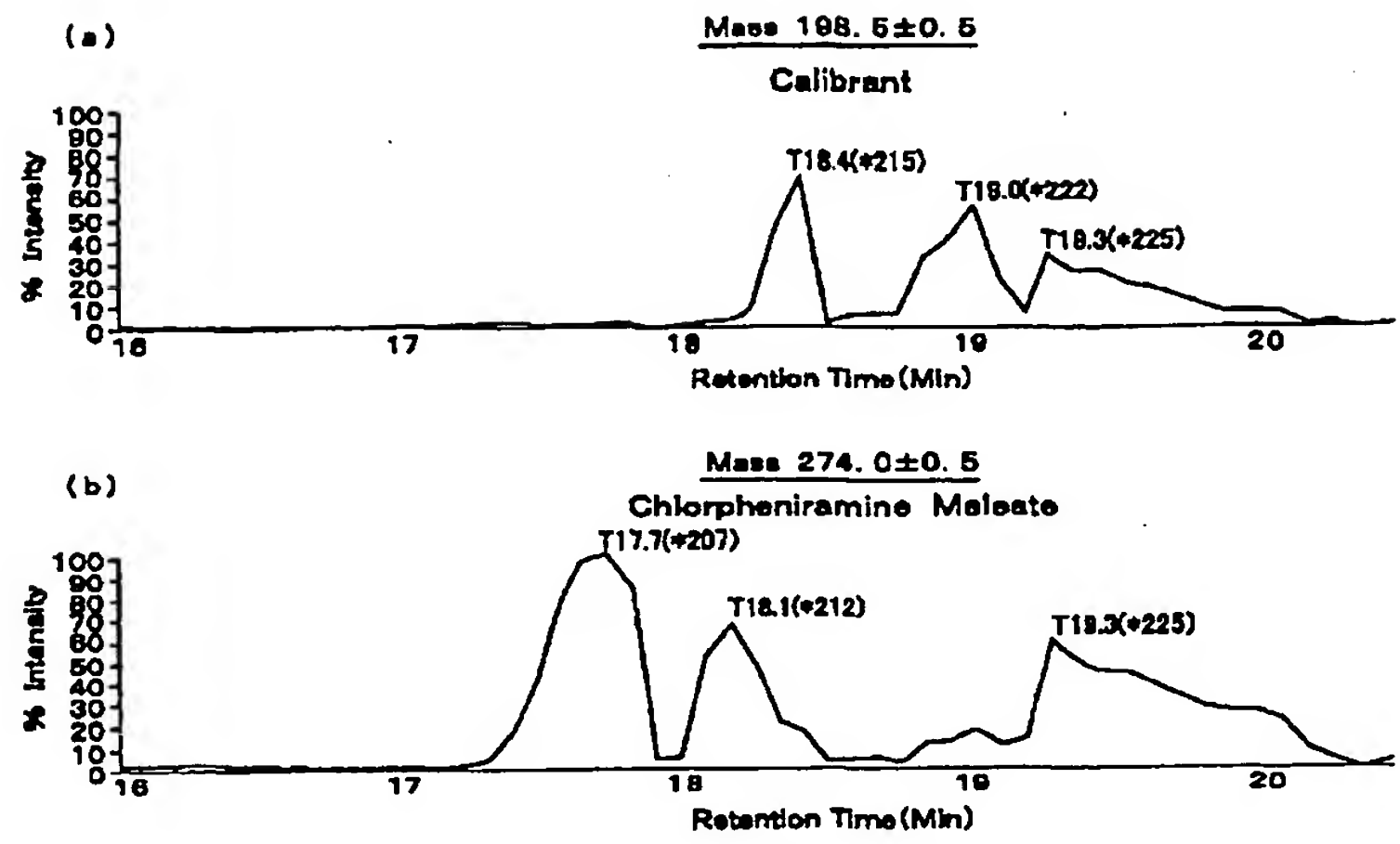
【図17】

濃縮工程

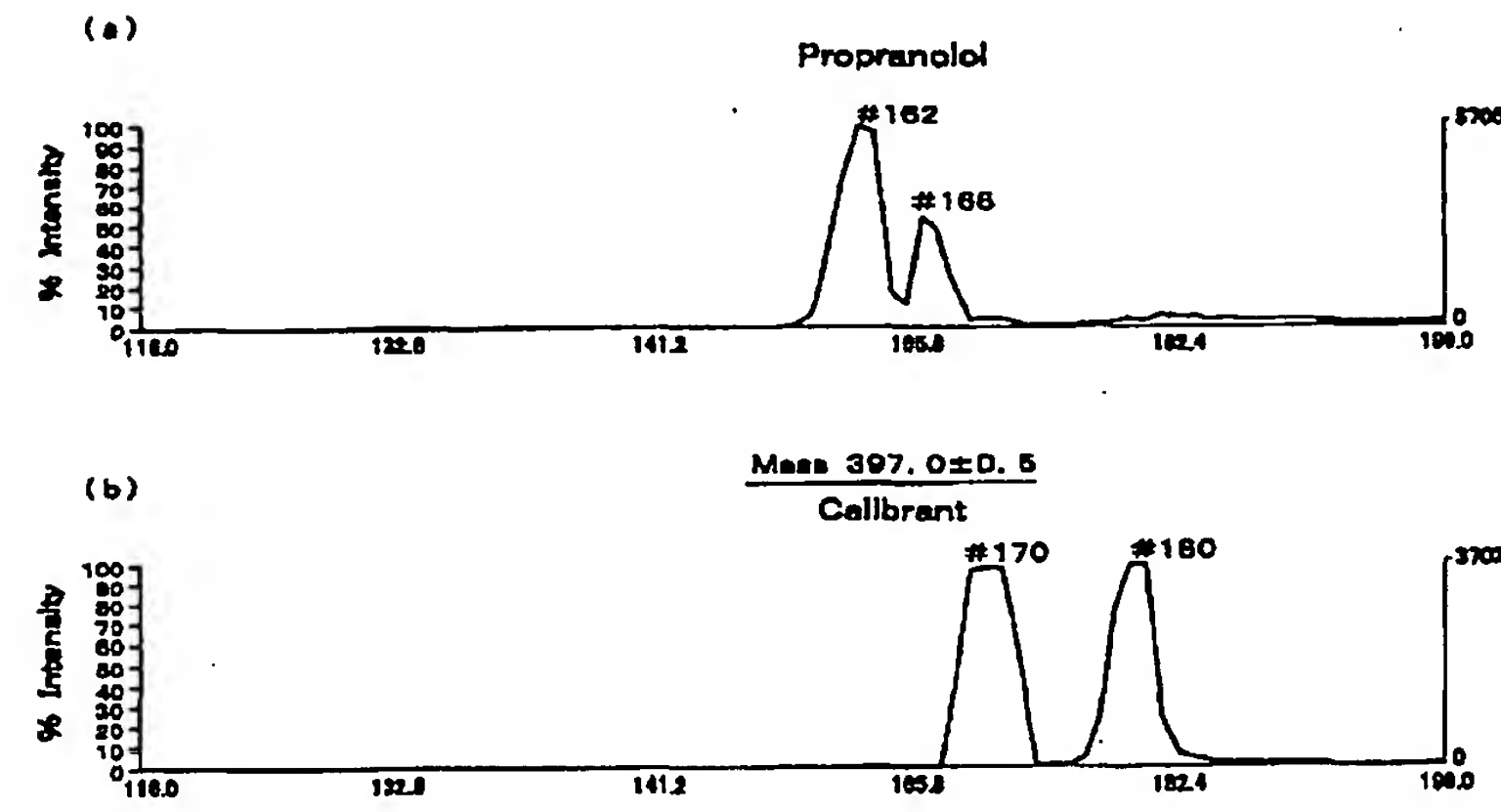


(14)

【図12】

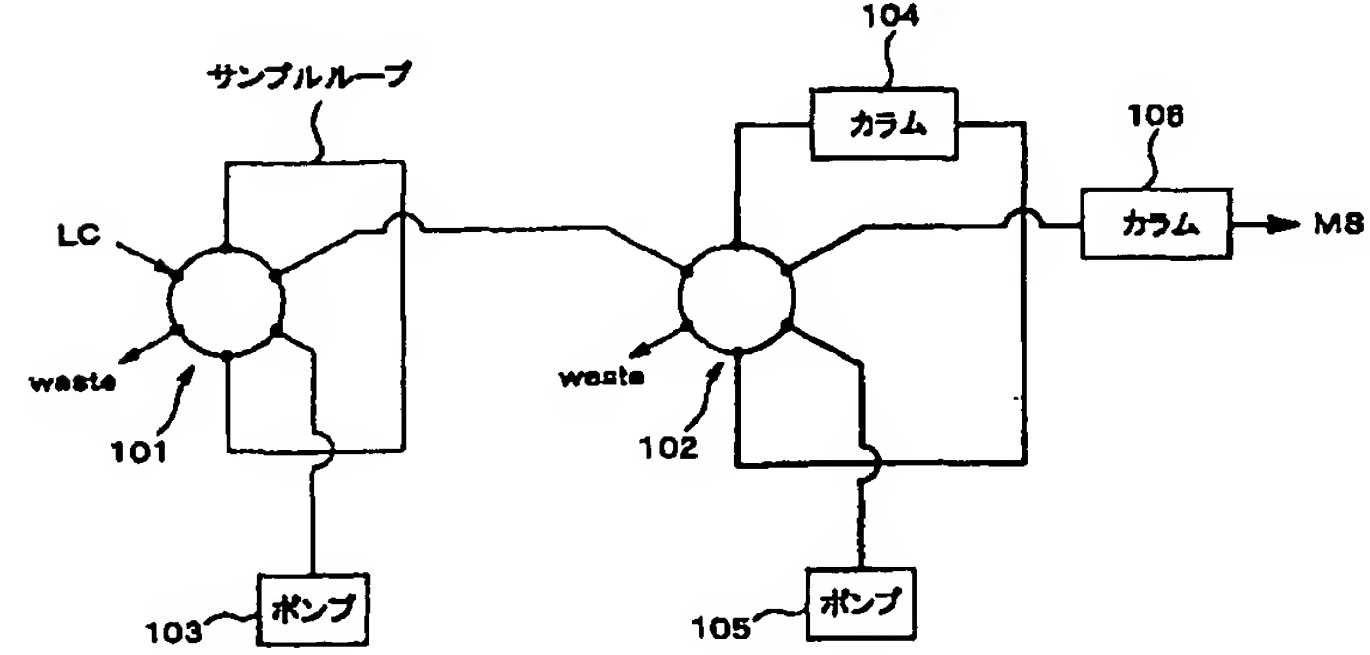


【図13】



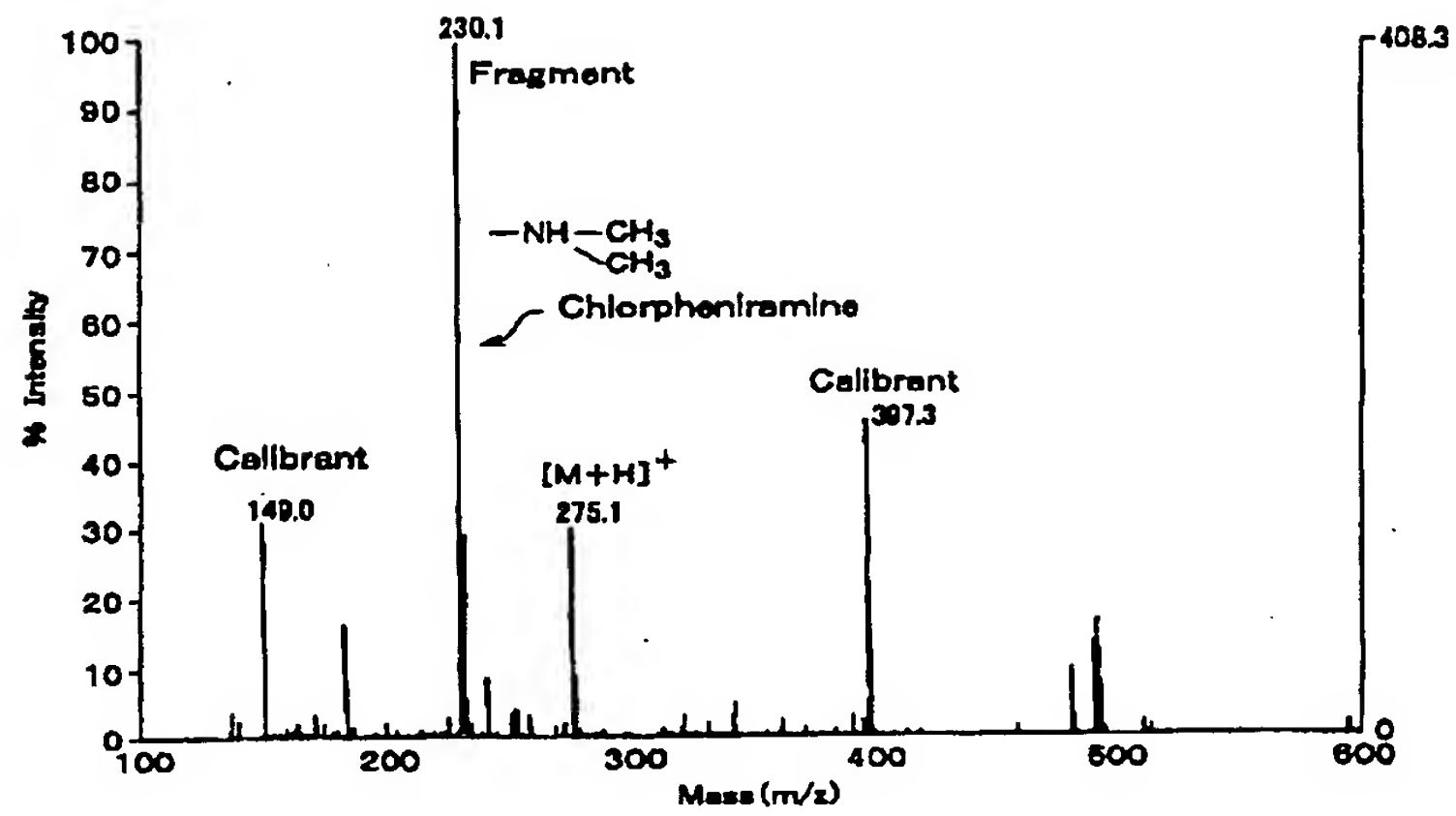
【図18】

溶出工程

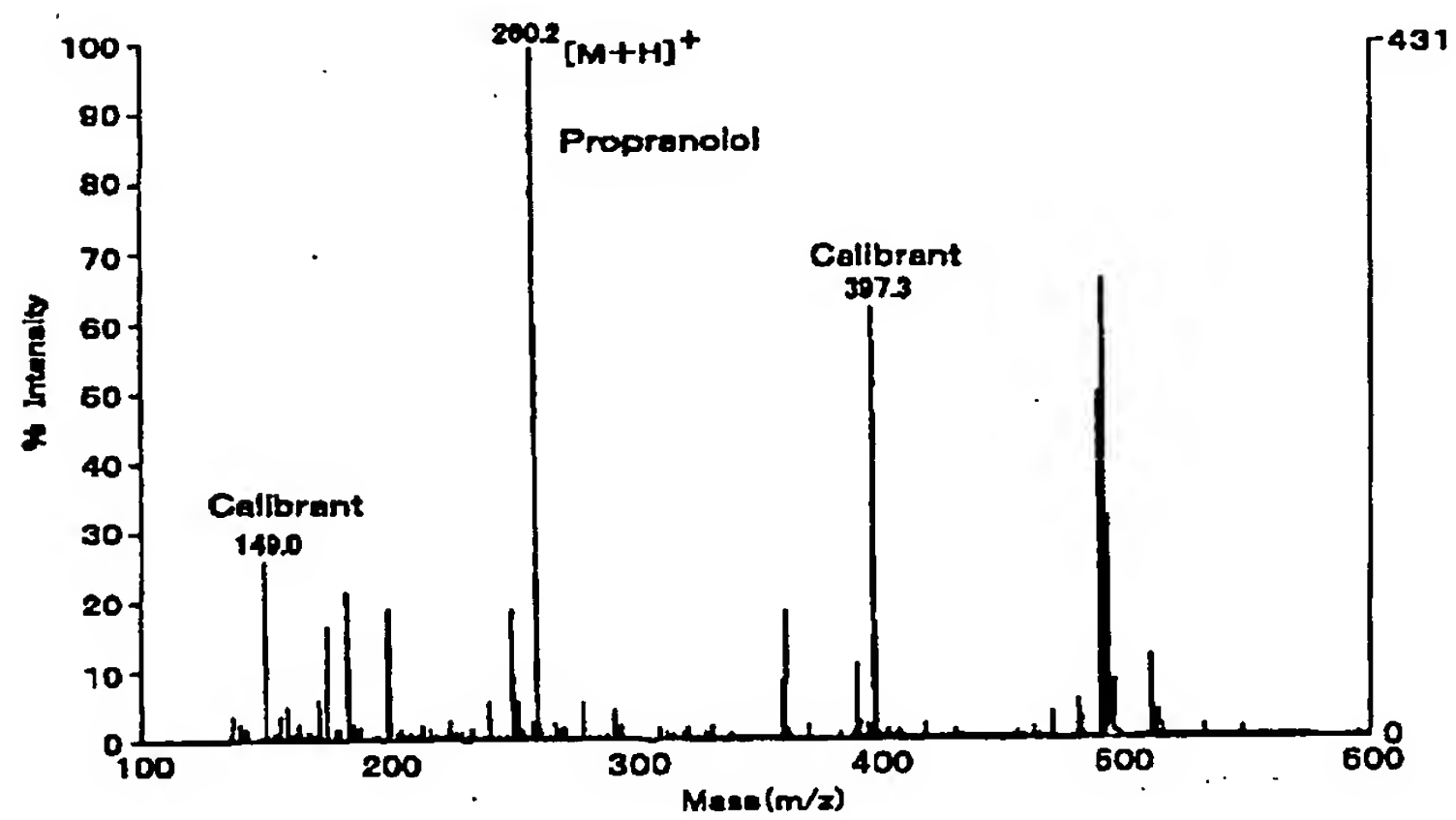


(15)

【図14】



【図15】



フロントページの続き

(72) 発明者 中井 清
大阪府大阪市此花区春日出中3丁目1番98
号 住友化学工業株式会社内